الفصل السابع

الإسراع من تسوية الجبن
Acceleration of cheese ripening

١. مقدمة

تسوية الجبن عملية معقدة لمجموعة متناسقة من التغيرات البيوكيماوية التى من خلالها تتحول خثرة خالية من الطعم الى جبن ناضج تحتوى على صفات طعم ونكهة وتركيب بنائى texture متميز لهذا النوع من الجبن. التحلل التدريجى للكربوهيدريت والليبيدات والبروتينات أثناء التسوية يتم بواسطة عدة عوامل تتضمن : (١) بقايا المواد المتجبنة ، (٢) بكتريا البادىء وأنزيماتها ، (٣) بكتريا غير بكتريا البادىء وأنزيماتها ، (٤) أنزيمات اللبن الطبيعية وخاصة البروتينيز (٥) الميكروبات الثانوية وأنزيماتها .

عملية التسوية مرتفعة التكاليف وتأخذ وقتا طويلا طبقا لنوع الجبن المراد انتاجه فمثلا جبن التشدر تسوى لمدة ٦-٩ شهور بينما البرمسان تسوى عادة لمدة قد تصل أكثر من سنتين. وفى ضوء تكاليف عملية التسوية فأن هناك مزايا أقتصادية واضحة يمكن الحصول عليها من الإسراع من عملية التسوية . الإسراع من عملية التسوية تعود بالفائدة على المنتج من الناحيتين الأقتصادية والتكنولوجية على أن يتوفر فى الناتج النهائى طعم وصفات ريولوجية مماثلة للجبن التقليدى .

تتضمن التغيرات البيوكيماوية الرئيسية فى تسوية الجبن :

(أ) تحلل بقايا الكربوهيدرات Glycolysis

(ب) تحلل الدهن Lipolysis

(جـ) تحلل البروتين Proteolysis والذى يتضمن تحلل الكازين الى ببتيدات أقل فى الوزن الجزئى وأحماض أمينية حرة .

الأسراع من تحلل السكريات والذى يحدث سريعا ليس له فائدة فى معظم أو جميع أنواع الجبن . الأسراع من تحلل الدهن قد يكون مفيدا فى الجبن المعرقة بالفطر وفى الأنواع

ومساهمة تحلل الدهن فى طعم جبن التشدر أو الأنواع الهولندية غير واضح وأسراع تحلل الدهن فى هذه الأنواع لا يتم عادة كوسيلة لتحسين الطعم.

يحدث تحلل للبروتين فى جميع أنواع الجبن ويعتبر عملية ضرورية فى تكوين طعم جيد. يتأثر تحلل البروتين بعدد من العوامل تشمل :

(١) بقايا المواد المجبنة (٢) أنزيم بروتينيز اللبن الطبيعى (٣) بروتينيز وببتديز proteinases & peptidases بكتريا البادىء والبكتريا الأخرى التى لا تنتمى للبادىء (NSB).

تتضمن التسوية تتضمن أنتاج ، من خلال مسارات مختلفة pathways ، مجموعة من المكونات ذات الطعم المرغوب والتى تعطى الطعم المميز فى الجبن المراد أنتاجه . والهدف من اسراع مسارات التغيرات البيوكيماوية المختلفة هو اختصار مدة التسوية بدون حدوث أى تأثير غير مرغوب على الطعم أو التركيب البنائى للجبن .

٢- طرق الإسراع من تسوية الجبن

الطرق الرئيسية للإسراع من تسوية الجبن تنحصر فيما يلى :

٢-١- التسوية على درجات حرارة مرتفعة Eleveated ripening temperature

٢-٢- إستخدام بادئات معدلة Use of modified starter cultures

٢-٣- استخدام بادىء مساعد (ثانوى) Use of adjuunct cultures (secondary)

٢-٤- إضافة أنزيمات خارجية Addition of exogenous enzymes

٢-٥- إستخدام معلقات الجبن Use of cheese slurries

وفيما يلى استعراض لهذه الطرق المستخدمة فى الإسراع من تسوية الجبن

٢-١- التسوية على درجات حرارة مرتفعة

تعتبر هذه الطريقة أسلوب بسيط فى إسراع تسوية الجبن من الناحية الفنية ولا توجد موانع قانونية بالنسبة لتعديل درجات حرارة التخزين العادية . بالرغم من أن هذا الأسلوب قد يعطى نتائج مرضية مع الجبن المرتفع الجودة إلا أنها تسبب كثير من المشاكل مع الجبن المنخفضة الجودة . الخسارة الأقتصادية الناتجة من أنخفاض الجودة أو الرفض الكامل لجزء من أنتاج المصنع قد يفوق ببساطة أى توفير فى تكاليف التخزين لهذه الجبن التى كانت صالحة للأسراع من ظهور الطعم .

معظم أنواع الجبن تسوى عند درجات حرارة منخفضة نسبيا (أقل من ١٥°م) بعضها قد يحفظ لفترات فى غرف دافئة لتكوين صفات معينة (كما فى جبن الأمينتال

لتكوين العيون) وعندما ينظر الى صناعة الجبن على أنها وسيلة لحفظ المكونات الغذائية فى اللبن لأستهلاكها فيما بعد فإن التخزين على درجات حرارة منخفضة يتمشى مع هذا المنطق ويكون مفيدا فى تقليل مخاطر حدوث الفساد. ونظرا لأن مصانع الجبن الحديثة تستخدم مواضفات واشتراطات صحية صارمة لكل من المواد الخام ومستلزمات الأنتاج والمعاملات لذلك فإن استخدام درجات حرارة مرتفعة فى التسوية تستحق الأهتمام تحت هذه الظروف التى تقلل من مخاطر حدوث الفساد .

من المعروف أن التغيرات البيوكيماوية والميكروبيولوجية تتم بصفة عامة بمعدلات أسرع كلما أرتفعت درجة حرارة التفاعلات لذلك يعتقد أن التفاعلات البيوكيماوية التى تولد مركبات الطعم أو مصادر مركبات الطعم يزداد معدلاتها بأرتفاع درجة الحرارة والتى عندها يتم تسوية الجبن.

تسوى كثير من أنواع الجبن حاليا على درجات حرارة منخفضة (٦-٨° م للجبن التشدر)، وفى دراسة عن تأثير عوامل مختلفة مثل نوع البادىء ، أعداد البكتريا غير بكتريا بادىء حمض اللاكتيك (NSL AB) ودرجة حرارة التسوية (٦ أو ١٣° م) على شدة الطعم flavor intensity فى الجبن التشدر بعد ٦ أو ٩ شهور تسوية ، وجد أن الجبن المسواه لمدة ٦ شهور على درجة ١٣° م حصلت فى درجة تحكيم ٤ بأستخدام القياس من صفر الى ٨ لشدة الطعم (وهذا يعادل جبن متوسطة / ناضجة) بينما حصلت الجبن المخزنة على ٦° م على درجة تحكيم ٣,٢ (تعادل جبن متوسطة التسوية) وقد لوحظ عند درجة ٦° م ظهور الطعم المر بدرجة واضحة نتيجة الى أنخفاض شدة الطعم أو لأن درجة الحرارة كانت غير مناسبة لتحلل الببتيدات المرة بواسطة أنزيمات الببتديز peptidases. كما وجد أن ظهور الطعم فى الجبن مرتبط بدرجة كبيرة بتكوين النتروجين الذائب الذى يتكون أساسا من الأحماض الأمينية الحرة والببتيدات الصغيرة (وزن جزئى أقل من ٦٠٠ D). بالرغم من أن مستويات التيروسين الذائب لجميع أنواع الجبن تتركز بعد ٩ شهور والنسبة بين الأحماض الأمينية الحرة الى الببتيدات تكون أعلا فى الجبن المسواه على درجة حرارة مرتفعة وخاصة الجبن المحتوية على بادىء معدل (مطفر mutant) .

التسوية فى البداية عند درجة حرارة مرتفعة وخاصة مع أستخدام بادىء معدل قد تسرع من أنتاج الببتيدات التى تستخدم كبيئة بواسطة أنزيمات ببتديز البادىء أى تزيد من سرعة تحلل البروتين . وقد أكدت نتائج البحوث فى هذا المجال على وجود أرتباط جيد بين مستويات النتروجين الذائب ودرجة تحكيم الطعم عند جميع مراحل التسوية طوال فترة ٩ شهور.

أجريت عدة محاولات لأستخدام نظام درجة حرارة لإسراع تسوية الجبن الجافة والنصف جافة مع وجود ميكروفلورا بسيطة نسبيا وقد أوضحت محاولات زيادة الطعم فى جبن الجودا المنخفضة فى الدهن أن الطعم المتوازن من السهل اتلافه ، فعند درجة ١٦°م يكون تحلل البروتين أسرع من تحلل الدهن ويظهر الطعم المر فى الجبن .

استخدام درجات الحرارة المرتفعة فى تسوية جبن الأيدام تسرع من حدوث فساد ميكروبيولوجى فى طعم والتركيب البنائى للجبن والذى يعزى الى *Clostridium tyrobutyricum* ، بكتريا حمض البروبيونيك و Lactobacilli المختلطة التخمر . وقد تم دراسة نظام جديد لدرجات الحرارة على نطاق مصنع كبير ، وفى هذه الطريقة تنقل الجبن بعد الكبس مباشرة الى مخازن تبريد سريعة حتى تنخفض درجة حرارة الجبن بسرعة الى أقل من ١٠°م ، عند حفظ الجبن بعد ذلك لمدة ١٤ يوم فإن بكتريا NSLAB تستمر فى النمو بمعدل بطيء حيث تخمر بقايا اللاكتوز الى حمض اللاكتيك فقط ولا يتكون أى منتجات أخرى قد تسبب أطعمة غير مرغوبة . يجب العمل على أن تكون ظروف التسوية مناسبة حتى تكون أعداد NSLAB أقل من ١٠ ^{٣} / جرام عند تعبئة الخثرة وتبقى الأعداد أقل من ١٠ ^{٦} / جرام بعد يوم ١٤ يوم ، بعد هذه الفترة فإن الطعم المتوازن فى الجبن يظهر بدرجة أسرع عند درجات حرارة تخزين مرتفعة نسبيا بدون خوف من حدوث عيوب فى الطعم نتيجة للنشاط الأيضى للبكتريا الثانوية . تتميز هذه الطريقة بأنها بسيطة على أن يكون الصانع لديه الأدوات الضرورية لأجراء عملية الكبس بالسرعة المطلوبة وأنه يمكن استخدامها لأى نوع من الجبن الجافة والنصف جافة والتى يعتمد ظهور الطعم فيها على عمليات أنزيمية تكون متميزة عن نشاط الأيضى للفلورا الثانوية فى الجبن.

يزداد تحلل البروتين بأرتفاع درجة الحرارة وزيادة فترة التسوية ويساهم فى سرعة تكوين الطعم فى الجبن فقد وجد أن مستويات النتروجين الذائب فى الجبن المسواه (٢٠°م لمدة ٤ اسابيع ثم ١٣°م لمدة ٢٨ أسبوع) عند ٨ ، ١٢ أو ٢٤ اسبوع تماثل جبن المقارنة (٨°م / ٣٢ أسبوع) عند ١٦ ، ٢٤ ، أو ٣٢ أسبوع على التوالى .

وقد أشارت الدراسات أن مركبات الكبريت الطيارة فى الجبن ترتبط بشدة الطعم. وبصفة عامة فإن تركيزات CH_3SH, H_2S تتمشى مع التغيرات التى لوحظت فى تحلل البروتين. يزداد تركيز carbonyl sulphide مع درجة الحرارة خلال فترة التسوية ولكن مستوى dimethyl sulphide يبقى ثابتا تقريبا حتى ٦ شهور ولكن ينخفض بعد ذلك . يوجد H_2S دائما فى الجبن فى كميات صغيرة جدا ، فى وجود H_2S بكميات

زائدة تكون رائحة هذا المركب واضحة فى الجبن ويسبب فى جبن الجودا عيب يطلق عليه "heavy" وغالبا ما تختفى الكميات الزائدة من H_2S مع تقدم عملية التسوية.

٢-٢- استخدام بادئات معدلة

تلعب أنزيمات بكتريا البادىء وبكتريا غير البادىء فى توليد الطعم فى معظم أنواع الجبن. الهدف من أستخدام البادئات المعدلة modified starters هو زيادة عدد خلايا البادىء دون حدوث تأثيرات غير مرغوبة فى سير الحموضة أثناء الصناعة وذلك لمساهمة الخلايا فقط فى تحلل البروتين وغيرها من التغيرات أثناء التسوية. هناك عدة أساليب لزيادة مساهمة هذه الخلايا فى الإسراع من التسوية وتتلخص فيما يلى :

(١) تنشيط خلايا البادىء stimulation of starter cells .

(٢) أستخدام البادئات المعاملة بالليسوزيم lysozyme - treated starters .

(٣) استخدام الخلايا التى تعرضت لصدمة الحرارية أو صدمة التجميد heat or freeze-shocked cells .

(٤) استخدام مزارع البادئات المطفرة mutant starter cultures .

تضاف البادئات المعدلة مع أضعاف قدرتها على أنتاج الحموضة مع البادئات العادية أثناء صناعة الجبن لتساهم فى تحلل البروتين أثناء التسوية .

جبن التشدر المصنعة بأستخدام بادئات معرفة السلالة التى تتميز بطعم نظيف وموحد لا يلبى رغبات السوق من الجبن المتقدمة فى التسوية بدرجة أكبر . كما يبدو أن التركيز على أسراع التسوية قد يغير من أستخدام اضافة بروتينيز / ليبيز الذى يتعرض لبعض الموانع القانونية فى بعض الدول الى أختيار سلالات بادىء تتميز بصفة التحلل الذاتى وزيادة البيتديز وقد يساعد هذا على وجود مجموعة أنزيمات متوازنة بدرجة أفضل عن اضافة أنزيمات خارجية .

٢-٢-١- تنشيط خلايا البادئ

يمكن تنشيط نمو خلايا البادىء بإضافة أنزيمات أو خلايا بادىء متحللة الى لبن الجبن . وقد أمكن الإسراع من تسوية جبن مماثل للأمينتال مصنوع فى روسيا بأستخدام بادئات نامية الى أعداد مرتفعة من الخلايا فى بيئات مدعمة ببروتين متحلل مع التسوية على درجات حرارة مرتفعة . بينما أمكن الإسراع من تسوية أنواع جبن روسيه أخرى بإضافة بادىء مدعم بأعداد مرتفعة من الخلايا الى لبن الجبن . وقد أستخدم بعض الباحثين "Rulactine" وهو أنزيم metalloproteinases من بكتريا *Micrococcus caseolyticus*

لإسراع تسوية جبن الأمينتال والجودا بدون ظهور الطعم المر ويضاف "Rulactine" الى حجم صغير من اللبن قبل صناعة الجبن لأنتاج ببتيدات صغيرة وأحماض أمينية التى تنشط من نمو البادىء والميكروبات الثانوية والتى بالأشتراك مع بقايا الأنزيم قد تساهم فى تحلل البروتين . كما أستخدم الكازين أو بروتينات الشرش المتحلل أو راشحات مزارع بعض البكتريا المحللة للبروتين النامية فى اللبن أو العناصر النادرة لإسراع تسوية الجبن الراس .

٢-٢-٢- المعاملة بالليسوزيم

يؤدى تحلل البكتريا lysis الى الإسراع من تحلل البروتين فى الجبن . فى محاولة للأسراع من تسوية الجبن التشدر ، أضيف خلايا معاملة بالليسوزيم lysozyme الى لبن الجبن ، بمعدل ١٠ ^{١٠} خلية / جرام من الجبن حيث وجد أن تحلل هذه الخلايا مع أنفراد أنزيم dipeptidase الخلوى فى الجبن يحدث عند تمليح الخثرة ويؤدى الى زيادة كبيرة فى تركيز الأحماض الأمينية الحرة عند ٦ شهور مقارنة بجبن الكنترول . لم يلاحظ أى تأثير على معدل تكوين أو شدة الطعم بالمقارنة بجبن الكنترول وقد أوضح البعض أن الأنزيمات الداخلية (الخلوية) قد لا تلعب دورا مباشرا فى ظهور الطعم .

أستخدام الخلايا المعاملة بالليسوزيم قد يكون غير اقتصادى فى صناعة الجبن على نطاق واسع نتيجة لأرتفاع تكلفة الأنزيم . إضافة الليسوزيم فى كبسولات من الدكسترات dextran matrix الى لبن الجبن قبل إضافة المنفحة يؤثر بدرجة كبيرة على تحلل بكتريا البادىء . يحدث تحلل كبسولة الدكسترات عند pH جبن التشدر (٥,٢-٥,٤) وينفرد الليسوزيم الذى يحلل جدار خلايا البكتريا وينفرد الأنزيمات المرتبطة بجدار الخلية كما يؤدى الى تحلل الخلايا مع أنطلاق أنزيمات الببتديز الداخلية intracellular peptidases . هذه الطريقة يجب أن تساعد على توزيع جيد لليسوزيم فى نسيج الجبن .

إضافة الليسين lysin الى بكتريا *L.lactis* subsp. *cremoris* النامية فى اللبن على نطاق تجريبى يسبب فقد سريع فى حيوية الخلايا ، حيث وجد أن ٠,٠٤٪ فقط من الخلايا تبقى حية بعد ٧٢ ساعة مقارنة بنسبة ٤٤٪ فى تجربة الكنترول . ويمكن اضافة الليسين lysin فى جبن التشدر مع الملح بعد الطحن ، ولكن لم تسجل أى محاولات لصناعة الجبن بأستخدام الليسين lysin .

٢-٢-٣- معاملات الصدمة الحرارية وصدمة التجميد

تهدف الصدمة الحرارية heat shock لخلايا بكتريا البادئات الى خفض قدرة هذه

الخلايا على أنتاج الحموضة وتحسين معدل التحلل الذاتى autolysis وبالتالى الأسراع من تحلل البروتين فى الجبن بواسطة أنزيمات البتديز المنطلقة من هذه الخلايا عند تحللها . وجد أن زيادة شدة المعاملة الحرارية لا يؤدى الى زيادة تحلل البروتين فى الجبن حيث يحدث تغيير فى طبيعة (دنترة) dénaturation أنزيمات البروتينيز proteinases عند درجات الحرارة المستخدمة وإضعاف قدرة هذه المزارع فى أنتاج الحموضة ولكن يؤدى ذلك إلى زيادة التحلل الذاتى .

إضافة كمية معتدلة من خلايا *Lb.helveticus* المعاملة حراريا (٦٩°م/ ٢٠ ثانية) مع بادئات مختلطة السلالة وغير معاملة تسرع من تسوية جبن السويدية الجافة Svecia كما وجد أن أنتاج الحموضة بواسطة هذا الميكروب قد انخفض الى أدنى مستوى له بينما قدرته على تحلل البروتين لم تتأثر بهذه المعاملة وبقيت كما هى . استخدام مزارع تعرضت لصدمة حرارية للوصول الى أعداد كبيرة من بادىء مختلط السلالة محتوى على *Lactococcus* ، *Leuconostoc* أو سلالات من *Lb.helveticus* ، التى تم تنميتها عند pH ثابت ثم سخنت الى ٥٩° م أو ٦٥° م لمدة ١٥ ثانية ، فى صناعة الجبن على مستوى تجريبى حيث أضيف الى حوض الجبن معلق خلايا يحتوى على ١٠ ^{١١} - ١٠ ^{١٤} خلية لكل حوض بدون تأثير كبير على نظام pH ، قد أدى الى أنخفاض قدرة هذه البكتريا على تحلل البروتين بحوالى ١٠ - ٣٠٪ فقط . يزداد تحلل البروتين بزيادة عدد خلايا *Lb. helveticus* المعاملة حراريا ولكن بدرجة ضعيفه مع البادئات مختلطة السلالة والمعاملة بالصدمة الحرارية .

ترتفع درجة جودة الطعم (درجة تحكيم الطعم) بزيادة أعداد الخلايا المعاملة بالصدمة الحرارية وكانت عملية التسوية أسرع فى الجبن المدعمة ببكتريا *Lb. helveticus* عن الجبن المدعمة بـ Lactococci ومن الممكن تقليل فترة التسوية بحوالى ٥٠٪ بأستخدام هذه المعاملة دون أن تظهر مرارة فى أى من هذه الجبن .

إضافة أنزيم بروتينيز متعادل neutral proteinase (يطلق عليه نيوتريز Neutrase) مع *Lb.helveticus* المعامل بالصدمة الحرارية بمعدل يصل الى ٤ x ١٠ ^{٦} cfu/ جرام خثرة تسرع أيضا من تسوية الجبن الجافة السويدية Svecia وقد كان معدل تحلل البروتين أعلا عند استخدام النيوتريز مع Lactobacilli المعاملة بالصدمة الحرارية عما لو أستخدم كل منهما بمفرده ، مما يدل على وجود علاقة تعاونية synergistic relationship بين انتاج البتيدات بواسطة النيوتريز وتحللها بواسطة أنزيمات peptidases البادئ المعامل. اضافة النيوتريز بمفرده أدى الى الحصول على جبن ذات قوام مفرول crumbly body

وطعم مر ، وقد تنخفض المرارة بدرجة كبيرة عند استخدام النيوتريز مع الخلايا المعاملة بالصدمة الحرارية وذلك من خلال تحليل الببتيدات المرة بواسطة أنزيمات peptidases المنفردة من هذه الخلايا. وقد وجد أن اضافة Lactobacilli معامل بالصدمة الحرارية تزيد من تحلل البروتين وينتج طعم جيد فى الجبن السويدية النصف جافة المنخفضة فى الدهن (١٠٪) ، وفى حالة عدم وجود هذه الأضافة يكون الطعم مر وبه قليل من الطعم المميز لهذه الجبن ، بينما أضافة Lactobacilli المعامل بالصدمة الحرارية يزيد من تحلل البروتين بدرجة كبيرة كما أن اضافة أعداد مماثلة من Lactobacilli الحية غير المعاملة بالصدمة الحرارية لا تسبب زيادة مماثلة فى تحلل البروتين . كما لوحظ وجود طعم مر فى جبن المقارنة حيث تحتوى على مستويات أعلا من الببتيدات متوسطة الحجم ولكن بمستويات أقل من الببتيدات الصغيرة والأحماض الأمينية الحرة عن الجبن المحتوية على بادىء معامل بالصدمة الحرارية . قد تسبب المعاملة الحرارية تحلل مبكر للخلايا ومما يدل على ذلك وجود مستوى مرتفع من أنزيم أمينوببتديز داخلى (خلوى) intracellular aminopeptidase فى مستخلص الجبن وقد يلعب دور فى أزالة المرارة من الجبن . وحديثا وجد أن الصدمة الحرارية لـ *Lb.bulgaricus* تؤدى الى أنطلاق مبكر لأنزيمات الببتديز الداخلية .

أشارت نتائج بعض البحوث الى أنه يمكن زيادة شدة الطعم فى الجبن الجافة السويدية المنخفضة الدهن بزيادة المستويات المضافة من Lactobacilli المعاملة بالصدمة الحرارية . التخلص من المرارة يحتاج الى اضافة مستويات أقل بدرجة كبيرة من الخلايا المعاملة بالصدمة الحرارية عن المستخدمة فى تحسين الطعم وقد يعزى ذلك الى سرعة تحلل الببتيدات متوسطة الحجم .

وفى دراسة عن تأثير اضافة Lactobacilli المحبة للحرارة المرتفعة والمعاملة بالصدمة الحرارية مع Lactococci المعاملة بالصدمة الحرارية الى جبن الجودا حيث وجد أن المعاملة الحرارية عند ٧٠° م لمدة ١٨ ثانية تعطى أفضل النتائج كما وجد أن تحلل البروتين كان أعلا فى الجبن المدعمة بسلالات *Lb.helveticus* المعاملة بالصدمة الحرارية عن الجبن المدعمة بسلالات *Lb.bulgaricus* أو *S.thermophilus* المعاملة بالصدمة الحرارية . *Lb.helveticus* المعامل بالصدمة الحرارية يؤدى الى تحسين الطعم والتخلص من المرارة .

تستخدم المعاملة بالتجميد والأنصهار freez-thaw treatment لأنتاج خلايا تحتوى على أنظمة نشطة لتحلل البروتين وذات قدرة منخفضة على استخدام اللاكتوز lactose-utilizing ability . تتحلل خلايا *Lb.helveticus* المعاملة بصدمة التجميد

freez-shocked .بمعدل أسرع يصل الى ضعفى خلايا المقارنة غير المعاملة . أضافة *Lb.helveticus* CRNZ 32 المعاملة بصدمة التجميد الى لبن جبن الجودا يسرع من تحلل البروتين وتكوين الطعم مقارنة بجبن الكنترول أو الجبن المضاف اليها خلايا هذه البكتريا غير المعاملة ، وقد كان هذا الأختلاف أكثر وضوحا بعد التسوية لمدة ٥ أسابيع . بالرغم أن خلايا *Lb.helveticus* غير المعاملة تسرع من تحلل البروتين وتنتج أطعمة غير مرغوبة فإن خلايا *Lb.helveticus* المعاملة تكون لها القدرة على إزالة الطعم المر .

إضافة *S.thermophilus* أو *Lb.bulgaricus* المعاملة بالصدمة الحرارية الى اللبن فى صناعة جبن الفتا Feta تسبب تغيرات فى الطعم والقوام ودرجة تحلل البروتين مقارنة بأستخدام أنزيم بروتينيز حامضى أو متعادل (نيوتريز Neutrase) . يلاحظ سرعة تكوين الطعم فى جميع المعاملات مع ظهور الطعم الكامل بعد ٤٠ يوم من التسوية بينما يظهر فى جين المقارنة بعد ٨٠ يوم . الجبن الناتجة بإضافة Lactobacilli المعاملة بالصدمة الحرارية تتميز بصفات حسية أفضل يليها الجبن الناتجة بأستخدام أنزيم البروتينيز المتعادل أو الحامضى . الجبن المضاف إليه بروتينيز حامضى تحتوى على مرارة خفيفة فى البداية ما تلبث أن تختفى بعد ٨٠ يوم . جميع الجبن المعاملة بالأنزيم يظهر بها الطعم بمعدل أبطأ عن الجبن الناتجة بأستخدام بادئات معاملة بالصدمة الحرارية لكن بعد ٨٠ يوم من التسوية ، درجة تحكيم الطعم كانت مماثلة فى جميع جبن التجربة .

وجد أن المعاملة الحرارية المثلى لخلايا *Lb.helveticus* CNRZ 32 (٦٤° م لمدة ١٨ ثانية) اتلفت ٩٠٪ من قدرة هذه الخلايا على أنتاج الحموضة ، ٦٠٪ من نشاط بروتينيز جدار الخلية cell wall proteinase ، ١٠٪ من نشاط أنزيم aminopeptidase ، وأنخفضت حيوية الخلايا viability الى ٠,٥٪ بالرغم من أن الفحص بالميكروسكوب الأليكترونى أوضح أن الخلايا المعاملة لم تتحلل . كما وجد أن اضافة *Lb.helveticus* CNRZ 203 المعامل بالصدمة الحرارية (٧٠° م / ٢٢ ثانية) بمعدل ١٪ أو ٢٪ الى اللبن قبل اضافة المنفحة قد أدى الى اسراع التسوية فى الجبن الراس واختصار فترة التسوية بحوالى ٥٠٪ ، حيث كانت جبن المعاملة عمر شهرين مماثلة فى جودتها الحسية لجبن الكنترول عمر ٤ شهور .

عند استخدم Lactobacilli المعامل بصدمة التجميد مع بروتينيز حر أو مغلف فى كبسولات من الليبوسوم liposome (يطلق عليه Corolase) فى الإسراع من تسوية جبن الجودا المصنع من لبن مركز بطريقة UF أو لبن عادى وجد أن معدل تحلل البروتين كان اسرع فى الجبن المحتوى على Corolase حر عن الجبن المحتوية على الأنزيم فى صورة

كبسولات من الليبوسوم . ومع ذلك فإن جبن المعاملة الأولى ظهر فيها الطعم المر بوضوح بينما الجبن الأخير ظهرت فيها المرارة بدرجة منخفضة ومماثلة لجبن الكنترول. كما وجد أن اضافة البروتينيز داخل كبسولات ليبوسوم مع Lactobacilli معامل بصدمة التجميد أدى الى زيادة كبيرة فى تحلل البروتين مع ظهور طعم أقوى بدون مرارة التى ظهرت فى جبن الكنترول UF وجبن UF المضاف إليها كبسولات الأنزيم . ظهور المرارة بدرجة أكثر وضوحا فى الجبن المحتوية على الأنزيم فى صورة حرة وجبن UF المحتوية على الأنزيم فى كبسولات ليبوسوم مقارنة بجبن الكنترول يرجع الى احتجاز كبسولات الليبوسوم بدرجة عالية فى جبن UF .

يمكن الإسراع من تسوية الجبن الجودا بإضافة خلايا مزارع بادىء مختلطة السلالة معامل بصدمة حرارية (٥٦,٥° م/١٧ ثانية) بمعدل يصل الى ٥٪ (حجم/حجم) الى لبن الجبن مع فقد ضئيل للخلايا فى الشرش ، وقد أرتفع مستوى النتروجين الأمينى من خلال تأثير الخلايا المعاملة بالصدمة الحرارية ولكن النتروجين القابل للذوبان فى ٤٪ كلوريد صوديوم لم يحدث له تغيير بذكر مقارنة بجبن الكنترول ، كما لوحظ أيضا أنخفاض فترة التسوية بحوالى ٢٥٪ مع أنخفاض مستوى المرارة فى الجبن.

٢-٢-٤- البادئات المطفرة

استخدمت سلالات بادىء مطفرة mutant starter بحيث تكون غير قادرة على تحلل اللاكتوز (Lac^-) لتوفير حزمة من أنزيمات البروتينيز / الببتديز متجانسة التوزيع لتحسين أنتاج الببتيدات والأحماض الأمينية الحرة . هذه الخلايا لا تشارك فى أنتاج الحموضة أثناء صناعة الجبن .

عند صناعة جبن التشدر بإضافة مركزات تحتوى على 10^{11} cfu / مل من *L.lactis* subsp. *cremoris* غير قادرة على تحلل كل من اللاكتوز والبروتين (Lac^- / Prt^-) الى اللبن عند مستويات تختلف من٠,٠٠٥ الى ٠,١٥ ٪ مع البادىء العادى وتسوية هذه الجبن على درجة ٢٠°م لمدة شهر ثم لمدة ٥ شهور عند درجة ٨° م أو عند ٨° م لمدة ٦ شهور ، وجد أن الجبن بعد ٦ شهور من التسوية عند درجة ٨° م والمضاف إليها البادىء المطفر قد حصل على أعلا درجات تحكيم الطعم كما أحتوت على مستويات أعلا من النتروجين الذائب والأحماض الأمينية الحرة مقارنة بجبن الكنترول و لم تظهر فى هذه الجبن مرارة وقد يرجع ذلك الى غياب أنزيم بروتينيز جدار الخلية فى السلالات المطفرة (Prt^-) .

جبن التشدر الناتج بأستخدام بادىء مطفر *L.lactis* subsp. *cremoris* (Prt^-) يحتوى على مستوى النتروجين الذائب عند pH ٤,٦ أعلا من جبن الكنترول عند جميع مراحل التسوية يرجع السبب فى ذلك الى نتروجين مستخلص الخميرة المستخدم فى تحضير بادىء الإضافة (الصناعة) من هذه المزرعة . درجة جودة الجبن الناتج كانت مماثلة لجودة جبن الكنترول مع أنخفاض طفيف فى درجات تحكيم الطعم فى جبن (Prt^-) . درجات تحكيم القوام والتركيب كانت أعلا من جبن (Prt^-) بعد ١٨٠ يوم من التسوية .

استخدام بادئات (Prt^-) فى جبن الجودا أعطى مستويات من النتروجين الذائب مماثل للموجود فى جبن الكنترول المحتوى على بادئ (Prt^+) ومع ذلك فإن مستويات النتروجين الأمينى أقل فى الجبن الناتجة بأستخدام ١٠٠٪ بادىء (Prt^-) . كما أن ظهور الطعم كان أقل فى هذه الجبن حيث كانت خالية من الطعم المميز لجبن الجودا . كما وجد أن حوالى ٢٠٪ من خلايا (Prt^+) فى مزارع البادئات كافية لتكوين أعلا معدل من النتروجين الأمينى ، ومن المحتمل أن ترجع الأختلاف فى تحلل البروتين بين هذه الجبن الى التباين فى نشاط أنزيمات البروتينيز والببتيديز فى سلالات الأصلية parent (Prt^+) والسلالات (Prt^-) المشتقة منها .

وفى دراسة عن تأثير مستوى بروتينيز البادىء على ظهور المرارة فى جبن التشدر وذلك بأستخدام بادئات تحتوى على نسب مختلفة من خلايا (Prt^+) ، خلايا (Prt^-) فى صناعة الجبن ، وجد أن الجبن الناتجة بأستخدام ٤٥-٧٥٪ خلايا (Prt^-) كانت أقل مرارة بدرجة كبيرة عن الجبن المصنعة بأستخدام خلايا (Prt^+) ، مما يدل على أن بروتينيز جدار الخلية له دور فى انتاج الببتيدات التى يمكن التخلص منها بواسطة أنزيمات الببتيديز الخلوية.

مزارع البادئات المطفرة المحتوية على مجموعة متكاملة من أنزيمات البروتينيز والببتديز أو أى منهما التى يمكن أن تنفرد مبكرا مع توزيعها فى الخثرة بصورة متجانسة يمكن أن تكون طريقة مثالية للأسراع من تسوية الجبن .

٢-٣- بكتريا NSLAB كبادىء مساعد (ثانوى)

بكتريا NSLAB تساهم بدرجة كبيرة فى تحلل البروتين وظهور الطعم فى الجبن . لذلك فإن إضافة أنواع مختارة من NSLAB مع البادىء العادى لزيادة معدل تحلل الكازين وظهور الطعم جذب أهتمام كثير من الباحثين فى مجال الإسراع من تسوية الجبن .

وجد أن اضافة 10^{9} cfu/مل من أنواع مختلفة من *Lactobacillus* spp. الى لبن

جبن التشدر أدى الى زيادة مستوى الأحماض الأمينية الحرة خاصة الجلوتاميك ، الليوسين ، الفينيل آلانين، الفالين والليسين فى الشق الذائب فى الماء عن جبن الكنترول التى لم يضاف اليها Lactobacilli وذلك خلال التسوية لمدة ٩ شهور . كما حصلت الجبن المدعمة بإضافة *Lb.casein* subsp. *casei* على أعلا درجات التحكيم فى الطعم بعد التسوية عند درجة ٦ أو ١٠°م لمدة ٧ شهور يليها جبن المدعمة *Lb.casei* subsp. *casei, Lb.plantarum* ثم جبن الكنترول ، بينما الجبن المضاف اليها *Lb.brevis* حصلت على أقل درجات التحكيم بعد ٦ أو ٩ شهور .

استخدام *Lb.casei* subsp. *casei* كبادىء مساعد (ثانوى) أعطى أفضل النتائج حيث كانت الجبن الناتج مرتفع الجودة وخال من المرارة بعد ٧ شهور من التسوية عند ٦°م حيث حصلت على درجات تحكيم أفضل من جبن الكنترول بعد ٩ شهور من التسوية . وقد لوحظت المرارة فى جبن الكنترول وكذلك فى الجبن المضاف اليها *Lb. brevis* أو *Lb.plantarum* .

كما أمكن الحصول على جبن مرتفع الجودة بأستخدام *Lb.casei* subsp *casei* ، *Lb.casei* subsp. *pseudoplantarum* مع ظهور الطعم بدرجة أفضل من جبن الكنترول بعد التسوية لمدة ٦ ، ٨ ، ٩ شهور (وقد تم تسوية الجبن لمدة شهرين عند ١٥°م ثم ١٠ شهور عند ٧°م او ١٥°م) كما لوحظ ظهور عيوب فى الطعم والقوام عند أستخدام سلالات أخرى من Lactobacilli المضافة .

تلقيح اللبن فى صناعة جبن التشدر بـ Lactobacilli مختلطة التخمر (*Lb. brevis* أو *Lb. fermentum*) قد تسبب فى ظهور عيوب فى الطعم والقوام مثل الطعم الفاكهى fruity ، القوام المفتوح openness وظهور عيب الغاز المتأخر late gassing . عندما تضاف هذه البكتريا مع بكتريا متجانسة التخمر مثل *Lb.casei* subsp. *casei* أو *Lb.casei* subsp. *pseudoplantarum* فإن البكتريا المختلطة التخمر لا تسبب أنخفاضا ملحوظا فى جودة الجبن عند مقارنتها بجبن الكنترول ولكن لم يلاحظ اختلاف فى طعم هذه الجبن بالمقارنة بجبن الكنترول . اضافة مركز خلايا مستخلص سائله أو بحفدة لبكتريا *Lb.casei* subsp. *casei* سواء الى لبن الجبن قبل المنفحة أو عند التمليح قد أدى إلى زيادة فى قوة الطعم بحوالى ٤٠٪ مقارنة بجبن الكنترول (المضاف اليه البادىء فقط) بعد ٦ شهور تسوية ، وقد تم الحصول على أفضل النتائج عند إضافة Lactobacilli غير المعامل مع بجنس homogenate الخلايا المجفد الى اللبن قبل اضافة المنفحة .

كما اشار البعض الى أن إضافة سلالات من *Lb.casei* الى لبن جبن التشدر

يسرع من تسوية الجبن وكانت السلالات التى أضيفت بمعدل ١٠ ^٦ / مل من اللبن قد صلت الى أكثر من ١٠ ^٧ / جرام من الجبن خلال ١٢ أسبوع الأولى من التسوية . لم يلاحظ أستخدام السترات أو تكوين الأمينات المرضية biogenic amines بعد ١٢ أسبوع من التسوية ولكن معدل تحلل البروتين مع تكوين أحماض أمينية حرة كان أعلا بدرجة كبيرة من جبن الكنترول . كان الطعم فى الجبن أكثر وضوحا بعد ٣٦ ، ٤٨ أسبوعا فى جبن المعاملات المختلفة مع عدم ظهور عيوب فى القوام أو التركيب البنائى texture للجبن .

اضافة سلالات من *Micrococcus* أو *Pediococcus* الى جبن التشدر منخفض الدهن قد ساعد على تحسين تحلل البروتين وظهور الطعم بالمقارنة بجبن الكنترول (المضاف البادىء فقط) بعد ٣ شهور من التسوية ، وقد حصلت الجبن المضاف اليها Pediococci على أعلا درجات التحكيم بعد ٦ شهور من التسوية بينما لوحظ ظهور أطعمة غير مرغوبة فى الجبن المضاف اليها Micrococci.

٢-٤- إضافة أنزيمات خارجية

نظرا لأن تسوية الجبن أساسا عبارة عن عملية أنزيمية فإنه من الممكن الإسراع من عملية التسوية بزيادة نشاط الأنزيمات الهامة والأساسية فى التسوية . تتميز أضافة الأنزيمات بإحداث تفاعلات معينة للأسراع من تكوين الطعم بالمقارنة بأستخدام درجات الحرارة المرتفعة فى التسوية التى يمكن أن تسرع من ظهور أطعمة غير مرغوبة وكذلك التفاعلات المكونة للطعم .

قد تضاف الأنزيمات لأنتاج طعم معين فى الجبن مثل إضافة أنزيم الليبيز للحصول على الطعم فى جبن البرمسان أو الجبن المعرقة بالفطر . من عيوب هذه الطريقة أن اضافة الأنزيمات غير مسموح به فى بعض الدول وأن أنواع الأنزيمات المرغوبة غير متوفرة بدرجة كافية . كما أنه من الصعب الحصول على توزيع متجانس للأنزيمات فى الخثرة مما يؤدى الى ظهور أطعمة شديدة الحرافيه فى بعض أجزاء من الجبن يطلق عليها hot spots وذلك إذا أضيف الأنزيم مع الملح . إذا اضيفت الأنزيمات الى لبن الجبن فإن ٩٠٪ من الأنزيم قد يفقد فى الشرش ، وقد يحدث تحلل للبروتين فى حوض التجبن أثناء الصناعة مكونا ببتيدات صغيرة والتى تفقد فى الشرش مما يؤدى الى أنخفاض فى محصول الجبن كما يجعل الشرش غير صالح للأستفادة منه فى صناعة منتجات أخرى . التسوية الزائدة مع ظهور عيوب فى الطعم والقوام قد تحدث نتيجة عدم القدرة على السيطرة على نشاط الأنزيم

أثناء التسوية .

أنواع جبن الجودا ، الأيدام أو السويسريه التى يتم فيها غسل الخثرة أو التخلص من جزء من الشرش والتمليح سطحيا (تمليح جاف أو رطب) فإنه يجب إضافة الأنزيم سواء الى لبن الجبن أو الى الخثرة . اضافة الأنزيمات مثل البروتينيز ، البيتديز أو الليبيز عملية مرتفعة التكاليف لذلك يجب تعويض ذلك عن طريق الإسراع فى التسوية وتكوين الطعم فى فترة تسوية أقل مما يؤدى الى خفض التكاليف الكلية لأنتاج الجبن .

وقد أشار البعض الى أن أضافة أنزيم واحد والذى يسرع من تفاعل واحد معين عملية غير ناجحة ما لم يكون التفاعل يمكن السيطرة على معدله بدرجة واضحة لذلك فإن الإسراع من تحلل البروتين بدون زيادة مصاحبة فى معدل تحلل البيتيدات وربما تحلل الدهن قد يؤدى الى تكوين طعم غير متزن مما ينشأ عنه ظهور عيوب فى الطعم . ونظرا لأن المسارات التى تؤدى الى تكوين مركبات الطعم ليست معروفة بدرجة كبيرة لذلك فإن إضافة أنزيمات خارجية لإسراع عملية التسوية تكون عملية تجريبية الى حد كبير .

٢-٤-١- أنزيمات البروتينيز / البيتديز Proteinases / peptidases

يحدث تحلل البروتين فى معظم أنواع الجبن حيث أنها عملية اساسية لتكوين طعم وتركيب بنائى جيدين فى الجبن . تتضمن أنزيمات البروتينيز proteinases فى الجبن : (١) البلازمين plasmin (٢) المنفحة rennet (٣) أنزيمات البروتينيز (جدار الخلية والخلوية أو كليهما cell wall and/or interacellular من بكتريا البادىء وبكتريا من غير البادىء NSB) . ينشأ البيتديز peptidases من جدار الخلية ، غشاء الخلية ومواقع داخل خلايا بكتريا البادىء وبكتريا NSB .

يحتجز حوالى ٦٪ من المنفحة المضافة الى لبن الجبن فى الخثرة بعد الصناعة وتساهم بدرجة كبيرة فى تحلل البروتين أثناء التسوية . وزيادة تركيز بقايا المواد المجبنة فى الجبن الهولندية يزيد من معدل تكوين النتروجين الذائب فى الماء بدون حدوث زيادة مقابلة فى تكوين الأمينو نتروجين ، وقد أتفقت الآراء على أن المستويات العادية المستخدمة من المنفحة تؤدى الى انتاج كميات كافية من البيتيدات وأن زيادة مستويات المنفحة لا يساعد على أنتاج أحماض أمينية وتكوين الطعم ولكن قد يؤدى الى حدوث مرارة .

نسبة الكيموسين المحتجزة فى خثرة الجبن تزداد بأنخفاض pH الخثرة عند صرف الشرش ولكن احتجاز المنفحة الميكروبية فى الخثرة لا يعتمد على pH . زيادة أحتجاز المنفحة فى الخثرة قد يؤدى الى سرعة تحلل البروتين ولكن يخفض من درجات جودة الطعم

فى جميع الجبن مع ظهور المرارة . عموما فإن زيادة مستويات المنفحة المضافة الى لبن الجبن أو المستحضر المجفد الى الخثرة أو بزيادة نسبة الأحتجاز فى الخثرة (عن طريق خفض pH) يؤدى الى حدوث المرارة التى تعوق أستخدامها كطريقة هامة من عملية التسوية .

الأنزيمات المختلفة (المنفحة ، البروتينيز الحامضى ، البروتينيز المتعادل ، والبروتينيز- ببتديز الحامضى ، الليبيز ، ديكربوكسيلز decarboxylases) قد تم دراستها فى معلق جبن التشدر ، من حيث مقدرتها على إسراع عملية التسوية عند درجة ٢٠ أو ٣٢°م وذلك عن طريق تقييم تحلل كل من البروتين والدهن وكذلك تكوين الطعم . المنفحة الفطرية وأنزيمات ديكربوكسيلز البكتيرى تساهم بدرجة ضئيلة فى طعم الجبن . استخدام البروتينيز الحامضى الميكروبى بالأشتراك مع المنفحة الفطرية يؤدى الى أنتاج طعم الجبن بدرجة معتدلة فى المعلق ولكن تسبب مرارة واضحة . استخدام بروتينيز متعادل مع ببتديز ميكروبى يزيد من شدة طعم الجبن وعندما أستخدمت هذه الأنزيمات مع المنفحة الميكروبية أدت الى أنخفاض المرارة التى حدثت بواسطة (المنفحة الميكروبية) حيث يسبب البروتينيز الحامضى مرارة شديدة . تعطى أنزيمات الليبيز الحيوانى أو الميكروبى طعم حاد فى الجبن ومرارة منخفضة وزناخة قوية rancidity بينما الليبيز بالأشتراك مع البروتينيز والببتديز أو أحدهما يعطى جبن جيد الطعم مع مستويات منخفضة من المرارة .

وقد وجد أن اضافة أنواع مختلفة من أنزيمات البروتينيز الفطرية والليبيز الى جبن التشدر يؤدى الى خفض فترة التسوية بحوالى ٥٠٪ مع انتاج جبن تشدر جيد الجودة فى ٣ شهور عند ١٠°م وعندما تسوى عند ٤,٥°م يحدث إسراع للتسوية بدرجة محدودة . الجبن المعامل بالأنزيمات تحتوى على مستويات أعلا من الأحماض الأمينية الحرة مع زيادة مستويات تحلل β-casein بالمقارنة بجبن الكنترول.

إضافة مستحضر أنزيمى يحتوى على بروتينيز وأنزيمات ببتديز خلوية من *Pseudomonas* spp. الى الجبن يسرع من تحلل البروتين وقد وجد أنه عند اضافة مستوى منخفض من هذا المستحضر فإن جودة وشدة الطعم المميز للجبن كان أعلا ما يمكن عند ٨ اسابيع من عمر الجبن والذى يعادل ١٦ أسبوع من جبن الكنترول ولكن عند ٢٢ أسبوع كان هناك أختلاف طفيف بينهما فى شدة الطعم بين جبن المعاملة والكنترول ، عند تركيزات مرتفعة من الإضافة فإن الطعم المميز للجبن التشدر كان يشوبه مرارة وغيرها من الأطعمة غير مرغوبة .

فى دراسة لتقييم أنواع مختلفة من أنزيمات البروتينيز الميكروبية للأسراع من تسوية الجبن التشدر وجد أن إضافة مستحضرات تجارية من البروتينيز المتعادل من *B.subtilis*

(يطلق عليه Neutrase) عند مستوى ٠,٠١٢٥ ملليجم/كجم قد أدى الى تحسين طعم الجبن التشدر بدرجة كبيرة دون ظهور عيوب ولكن المستويات الأعلى من الإضافة أدت الى ظهور مرارة فى الطعم . أنزيم Aspartyl proteinase الناتج من فطر *Aspergillus oryzae* الذى يحلل البروتين فى الجبن بدرجة كبيرة ودائما ما يؤدى إلى حدوث مرارة حتى عندما يضاف عند مستوى من نشاط تحلل البروتين يعادل فقط ٤٪ من المستوى المثالى للنيوتريز Neutrase . كما أن أنزيم البروتينيز القلوى الذى ينتجه *Bacillus licheniformis* ويطلق عليه Subtilisin ينتج مرارة شديدة فى الجبن عند مستوى من الإضافة مماثل للنيوتريز (٠,٠١٢٥ ملليجم/كجم) . عند إضافة البرونيز Pronase (بروتينيز ذات نطاق واسع من النشاط من *Streptomyces griseus* مع بعض نشاط من amino peptidase) بمستوى مماثل للنيوتريز ينتج طعم قوى فى الجبن ولكن يسبب أيضا مرارة بينما المستويات الأقل من البرونيز يحسن من الطعم دون ظهور طعم غير مرغوب .

فى دراسة أخرى عن أستخدام نيوتريز أو بروتينيز من *A.oryzae* للأسراع من تسوية الجبن وجد أن ذلك يؤدى الى الأسراع من ظهور الطعم بمعدل قد يصل الى الضعف . يسبب أنزيم البروتينيز الحامضى من *A.oryzae* تحلل للبروتين بدرجة شاملة عما يحدث فى جبن الكنترول أو الجبن المعاملة بالنيوتريز ولكن تظهر المرارة عند جميع مستويات الإضافة للبروتينيز الحامضى المستخدمة، وقد يعزى ذلك الى ثباته ونشاطه بدرجة أكبر عند pH جبن التشدر . جميع الجبن المعاملة بالبروتينيز كانت أكثر فرولة crumbly وأقل مطاطية وأقل صلابة عن جبن الكنترول ، لكن هذه المشاكل ليست على درجة كبيرة من الأهمية عند مستويات منخفضة من النيوتريز . التأثير على التركيب البنائى texture للجبن قد يرجع الى تحلل β-casein بدرجة زائدة فى الجبن المعاملة بالأنزيم.

تعديل درجة حرارة التسوية قد تستخدم لزيادة تأثير النيوتريز ، التسوية فى المراحل الأولى عند ٦°م لمدة شهرين يسبب تحسن طفيف فى الطعم بينما التخزين عند ١٨°م لمدة ٣ شهور يسبب تحسن ملحوظ فى طعم الجبن دون حدوث عيوب فى الطعم ، لم يلاحظ حدوث إسراع فى التسوية عند درجة حرارة ٦°م . تأثير مستويات مختلفة من البروتينيز المتعادل من *A.oryzae* على تسوية جبن التشدر يدل على أن تحلل البروتين يزيد بزيادة مستوى الأنزيم المضاف (تركيز الأحماض الأمينية الحرة فى الجبن المضاف اليها ٠,٠١ - ٠,١٪ بروتينيز بعد ٢-٤,٥ شهر فى التسوية يعادل ما هو موجود فى جبن الكنترول بعد

٦ شهور من التسوية) فإن المستويات المنخفضة من البروتينيز (٠,٠٠١- ، ٠,٠٠٥٪) لا يكون له تأثير محسوس على طعم الجبن وأقل المستويات (٠,٠٥-٠,٢٥٪) التى تعطى تحسن فى الطعم تسبب أيضا مرارة وتزداد شدة الطعم وفقا لمستوى الأنزيم المضاف كما وجد أنه فى الجبن المعاملة بالأنزيم أن التركيب البنائى للجبن كان أكثر طراوة وأقل مطاطية وألتصاقا عن جبن الكنترول أثناء التسوية .

وقد تم إسراع تسوية جبن الفتا Feta بأستخدام بروتينيز متعادل من *B.subtilis* أو بروتينيز حامضى من *A.oryzae* أو باديء مختلط من *S.thermophilus* ، *Lb.bulgaricus* معامل بالصدمة الحرارية وقد وجد أن ظهور الطعم فى جبن المعاملات كان أسرع من جبن الكنترول مع أختصار فترة التسوية بحوالى ٥٠٪ (٨٠ الى ٤٥ يوم) ، وقد لوحظت المرارة فقط فى حالة الجبن المعاملة بالبروتينيز الحامضى . استخدام مستحضر ليبيز / بروتينيز من *A.oryzae* يؤدى الى أنفراد أحماض دهنية (C_6-C_{10}) منتجة طعم مماثل لجبن التشدر المتقدمة فى العمر عندما تضاف عند التمليح الى جبن Colby . إضافة بروتينيز متعادل عند التمليح يؤدى الى أنتاج تركيب بنائى texture مماثل لجبن التشدر متقدمة فى العمر دون ظهور مرارة .

أستخدام Flavour Age-FR (مخلوط من الليبيز والبروتينيز من *A.oryzae*) الذى يسرع من أنفراد أحماض دهنية متوسطة فى طول السلسلة ، يسرع من أنتاج جبن تشدر جيد الجودة . كما وجد أن أضافة ٤٨ ملليجم من هذا المستحضر / كجم خثرة عند التمليح تعطى زيادة كبيرة فى النتروجين الذائب . عند درجات حرارة منخفضة فى التسوية (٥°م) فإن هذا المستحضر يحسن من طعم ونكهة الجبن بالرغم من حدوث بعض المرارة ، لكن عند ١٠ أو ١٥°م فإن درجات تحكيم الطعم أقل منها فى جبن الكنترول مع وجود مرارة . كما أن الجبن المعامل بهذا المستحضر يسبب قوام طرى أو مفرول فى الجبن الناتج .

وهناك أتجاه آخر للأسراع من تسوية الجبن بأستخدام مخاليط من البروتينيز والببتديز ، خلايا باديء معامل أو مستخلصات خالية من الخلايا . Intercellular cell free extracts (CFE) وقد وجد أن أستخدام CFE لبكتريا باديء الجبن بالأشتراك مع نيوتريز يؤدى الى الأسراع فى ظهور الطعم فى الجبن بدرجة كبيرة . CFE لا يسبب زيادة فى مستوى التحلل الأولى للبروتين ولكن تسبب زيادة سريعة فى الببتيدات الصغيرة والأحماض الأمينية الحرة ، كما وجد فى الجبن الناتج بأستخدام هذه الأضافات أن مستويات الببتيدات الصغيرة والأحماض الأمينية الحرة أعلا منه فى حالة

أستخدام النيوتريز بمفرده . الجبن المعاملة بالـ CFE مع نيوتريز يكون الطعم فيها أقوى بعد شهرين عن الجبن المعاملة بالنيوتريز بمفرده . زيادة مستوى CFE مع مستوى ثابت من النيوتريز يزيد من تحلل البروتين ولكن لا يسبب زيادة فى معدل تكوين الطعم بدرجة تتناسب مع المستويات المضافة مما يعتقد أن أنتقال الأحماض الأمينية الى مكونات الطعم عملية هامة لا تتم إلا بمساعدة أنزيمات البادىء. وقد أمكن الحصول على نظام أنزيمى an enzyme system يعرف بالأكسيليز Accelase للأسراع من عملية التسوية محتويا على CFE من بادىء Lactococci وأنزيم بروتينيز . الأكسليز ينتج ويحلل على التوالى الببتيدات المرة الكارهه للماء bitter hydrophobic peptides معطيا جبن شديد الطعم مع سيادة للببتيدات الثنائية والثلاثية المحبة للماء . وقد يبدو أن أنزيمات ببتديز البادىء تساهم بطريقة مباشرة فى تحلل الببتيدات الكبيرة الناتجة بواسطة النيوتريز والكيموسين أو أى منهما بمفرده الى ببتيدات أصغر وأحماض أمينية حرة .

إضافة CFE من *Lb.helveticus* ، *Lb.bulgaricus* أو *Lb.lactis* الى خثرة جبن معقمه وحامضيه كيماويا تزيد من مستويات النتروجين الذائب عنه pH ٤,٦ (التحلل الأولى للبروتين) . وقد كانت التسوية اسرع فى حالة CFE من *Lb.lactis* الذى يزيد من معدل تحلل β-casein ولكن بعد شهرين لوحظت المرارة فى جميع الجبن المعاملة بالـ CFE.

المعاملة بالنيوتريز بمفرده يؤدى الى المرارة فى بعض الحالات ومع ذلك فإن استخدامه مع سلالات مطفره (lac^-/prt^-) فإن المرارة تكون أقل وضوحا عن إستخدام النيوتريز بمفرده مما يؤكد دور أنزيمات الببتديز الداخلية فى البادئات المطفرة . وقد وجد أن استخدام النيوتريز بمفرده قد أدى الى خفض فترة التسوية بحوالى ٢٥٪ . التحلل الثانوى للبروتين أو تحلل الببتيدات يبدو من العوامل الهامة فى تحديد معدل التسوية .

يمكن الإسراع من التحلل الأولى والثانوى للبروتين فى الجبن الجافة بدرجة كبيرة بإضافة النيوتريز مع Lactobacilli المعاملة بالصدمة الحرارية الى لبن الجبن . اضافة Lactobacilli المعامل بالصدمة الحرارية (بدون اضافة النيوتريز) الى لبن الجبن ليعطى $١٠^{٦}$ cfu/جرام جبن بعد ٢٤ ساعة يزيد بدرجة كبيرة من التحلل الثانوى للبروتين . يرتفع معدل تحلل البروتين أيضا بواسطة النيوتريز بمفرده ولكن مع ظهور المرارة ، بينما أضافة النيوتريز مع Lactobacilli المعامل بالصدمة الحرارية لا يسبب زيادة فى إجمالى تحلل البروتين ولكن يزيد من النتروجين الأمينى بدرجة كبيرة وتختفى المرارة الناتجة من النيوتريز.

أنزيمات aminopeptidases من *Brevilbacterium linens* المكون الرئيسى فى الميكروفلورا السطحية فى الجبن المسواه سطحيا ، قد استخدمت حديثا مع نيوتريز

للأسراع من تسوية جبن التشدر . وقد أرتفع مستوى الأحماض الأمينية الحرة فى الجبن المعاملة بالنيوتريز مع aminopeptidase من *B.linens* عن الجبن المعاملة بالنيوتريز مع CFE من *L.lactis* subsp. *lactis* لوحظ وجود تأثير تعاونى فى ظهور الطعم مع النيوتريز و aminopeptidase أو مع النيوتريز و CFE من *L.lactis* subsp. *lactis* . فترة تسوية جبن التشدر يمكن خفضها من ٤-٦ شهور الى شهرين بإضافة النيوتريز مع aminopeptidase من *B.linens* . الأنزيم الأخير يكون ثابتا فى الجبن ولكن توزيعه فى الخثرة غير متجانس .

وجد أنه يمكن إسراع تسوية الجبن الراس بإضافة Lactobacilli معامل بالصدمة الحرارية ، بروتينيز ليبيز ، أو نيوتريز (٥٠ مللجم / ١٠٠ كجم لبن) مع إضافة أنزيمات خلوية من *Lb.bulgaricus* أو *Propionibacterium freudenreichii* أو *B.linens*. الأنزيمات الخلوية مع النيوتريز لا تسرع من أجمالى تحلل البروتين بالمقارنة بالنيوتريز بمفرده . الجبن المعامل بالنيوتريز مع CFE تتميز بطعم أقوى عن جبن الكنترول أو الجبن المعاملة بالنيوتريز بمفرده . وعلى ذلك فإن المرارة تزداد فى الجبن مع إضافة النيوتريز و CFE بعد شهرين بعكس دراسات أخرى أوضحت أن CFE قللت من المرارة الناتجة من النيوتريز . اضافة الأنزيمات الخلوية تقلل من فترة التسوية بحوالى ٢٥٪ مع الحصول على أفضل النتائج مع CFE من *Lb.bulgaricus* . كما وجد أن اضافة ناتج ترشيح مزارع *Pseudomonas flourescens* النامية فى اللبن الى اللبن فى صناعة الجبن الراس أدى الى الإسراع من تسوية الجبن وخفض فترة التسوية بحوالى ٥٠٪ حيث أمكن الحصول على جبن راس بعد شهرين من التسوية على درجة جودة تعادل مثيلتها فى جبن الكنترول بعد ٤ شهور من التسوية .

إضافة CFE لإسراع التسوية يؤى بصفة عامة الى تراكم الببتيدات الصغيرة والأحماض الأمينية دون زيادة فى إجمالى تحلل البروتين .

٢-٤-٢- بروتينيز فى كبسولات ليبوسوم

Liposome entrapment of proteinases

يؤدى إضافة الأنزيمات الى لبن الجبن الى تقسيم الأنزيم بين الخثرة والشرش مما يمثل فقد إقتصادى وزيادة فى تكاليف الصناعة ، فمثلا يحتجز فقط ٥-١٠٪ من أنزيم النيوتريز فى الخثرة بعد التخلص من الشرش .

اضافة الأنزيمات فى كبسولات الليبوسوم liposome المصنعة من الفوسفوليبيدات الى لبن

الجبن تعتبر طريقة بديلة لتدعيم الجبن بالأنزيمات . يتكون الليبوسوم من مواد عبارة عن مكونات أغذية طبيعية وتحليل غشاء الكبسوله فى الجبن يؤدى الى أنطلاق الأنزيم الى الخثرة . كما أن كبسولات الليبوسوم يضمن توزيع متجانس للأنزيم فى الخثرة حيث أن الأنزيم المحتجز داخل الكبسولة عند إضافته الى لبن الجبن يحتجز فى الجل (الخثرة) عند التجبن .

إضافة الأنزيمات فى الكبسولات الليبوسوم liposome المصنعة من الفوسفو ليبدات الى لبن الجبن للأسراع من تسوية الجبن تتميز بعدة مزايا أهمها :-

أ - حماية بروتينات اللبن من التحلل بفعل الأنزيم المرتبط أثناء عمليات الصناعة .

ب- احتفاظ الخثرة بالأنزيمات داخل الكبسولات وبالتالى عدم فقدها فى الشرش .

جـ- تسمح تكنولوجيا أعداد الليبوسوم بتحضير نوعيات من الكبسولات تختلف فى حجمها ومدى تحملها للحرارة والحموضة وكذلك مدى ثباتها فى الجبن مما يسمح بأستخدامها فى عديد من أنواع الجبن .

د - يمكن تحميل الكبسولات بشحنات موجبه أو سالبه تسمح بتوجيها داخل الجبن الى مادة التفاعل المراد تحليلها (دهن أو بروتين) وبالتالى يكون التحليل أسرع ويحتاج الى كمية أقل من الأنزيم .

كبسولات الليبوسوم عبارة عن أوعية صناعية مركزها الداخلى عبارة عن محلول مائى محاط بطبقة أو أكثر من الفوسفوليبيدات وتوجد فى أشكال عديدة منها الأوعية متعدد الطبقات multilamellar vesicles(MLV)، الأوعية الصغيرة وحيدة الطبقة small unilamellar vesicles (SUV)، الأوعية الكبيرة وحيدة الطبقة large unilamellar vesicles (LUV) والأوعية متعددة الطبقات oligolamellar vesicles (OV) كما أن هناك أوعية reverse phase evaporation vesicles (REV) وكذلك dehydration- rehydration vesicles (DRV)

الطرق البديلة لإضافة الأنزيم الى الجبن تتضمن إضافة مستحضر الأنزيم الجاف مع الملح عند الطحن ولكن هذه الطريقة تعوق استخدامها فى أنواع الجبن التى تملح سطحيا أو فى محلول ملحى (تمليح رطب) . الجدو ل (١-٧) يوضح الطرق المختلفة لإضافة الأنزيم الى الجبن .

جدول ١-٧ : طرق إضافة الأنزيم الى الجبن

	الإضافة مباشرة الى اللبن	الإضافة فى صورة كبسولات	الإضافة مباشرة الى الخثرة
توزيع الأنزيم	جيد	جيد	ضعيف
تركيب الخثرة texture	ضعيف	عادى	عادى
المحصـــول	ينخفض	عادى	عادى
تلوث الشرش	تلوث كامل	لا يحدث تلوث	تلوث الشرش الناتج من الكبس فقط

وقد أشار البعض الى النجاح فى أستخدام كبسولات الليبوسوم متعدد الطبقات لربط النيوتريز المضاف الى اللبن لصناعة جبن التشدر فى نطاق التجارب المعملية . لا تتحلل الكازينات أثناء الصناعة بواسطة أنزيم النيوتريز فى الكبسولة على عكس النيوتريز الحر الذى يحلل حوالى ٢٠٪ من β-casein بعد عملية الشدرنه . حوالى ١-٢٪ فقط من النيوتريز الموجود أصلا فى محلول الأنزيم يحتجز فى كبسولة الليبوسوم بينما ١٧٪ من الليبوسوم المضاف يحتجز فى الخثرة . وقد أشار البعض الى أن أنفراد النيوتريز من الكبسولات غير مؤكد نظرا لأن تحلل البروتين فى الجبن متماثل سواء أضيف النيوتريز فى ليبوسوم أو فى صورة حرة . كما وجد أن أكثر من ٩٠٪ من الأنزيم فى كبسولات REV قد أنطلقت الى داخل الجبن وأدت الى الإسراع من عملية التسوية بصورة واضحة.وقد أوضحت دراسات الميكروسكوب الأليكترونى أن الليبوسومات توجد فى صورة عناقيد clusters موزعة بطريقة عشوائية خلال الجبن . يحدث تحلل البروتين فى الجبن المعاملة بالليبوسوم أكثر تدرجا عن الجبن المضاف اليه النيوتريز فى صورة حرة .

التركيب البنائى texture للجبن المعاملة بالنيوتريز الحر يحدث له كثير من العيوب أو التغيرات غير المرغوب بعد ٣ شهور بينما الجبن المعامل بالأنزيم يفسد بعد ٨ شهور . الجبن المعاملة بالنيوتريز داخل كبسولات الليبوسوم مع CFE من *L.lactis* subsp. *lactis* (يضاف الى الخثرة عند التمليح) كان أقل فرولة عن الجبن المعاملة بالنيوتريز الحر مع أنزيمات داخلية . وقد لوحظ سرعة ظهور الطعم فى جميع جبن المعاملات مقارنة بجبن الكنترول .

وقد أستخدم الليبوسوم بصوره المختلفة السابق الإشارة اليها فى تغليف مستحضر أنزيم Colorlase لإضافته الى اللبن فى صناعة جبن الجودا وقد وجد أن نسبة الأنزيم المحتجز فى الكبسولات تكون أفضل فى REV وأقل فى SUV . تحلل البروتين يكون أقل

فى الجبن المحتوية على أنزيم داخل كبسولات ليبوسوم عما فى الجبن المعاملة بالأنزيم الحر ولكن أعلا قليلا عن جبن الكنترول وقد أضيف كبسولات ليبوسوم حساس للحرارة والمحتوية على Colorlase والمصمم بطريقة تسمح بأنفراد الأنزيم من الكبسولات مبكرا الى اللبن المستخدم فى صناعة الجبن الدمياطى . وقد حفظت الجبن على درجة حرارة مرتفعة لفترات قصيرة لأنفراد البروتينيز من الكبسولات ولكن وجد أنه نتيجة لدرجات الحرارة المرتفعة المستخدمة فى أنتاج الكبسولات (٥٥°م لمدة ساعتين) حدث تغير فى طبيعة (دنترة denaturation) البروتينيز .

وحديثاً أستخدمت كبسولات REV الموجبة الشحنة والمحتوية على بروتينيز من *B. subtilis* الى اللبن المبستر فى صناعة الجبن الراس للأسراع من التسوية . وقد أظهرت كبسولات REV كفاءة عالية فى أحتجاز البروتينيز (٣١,٧ ٪ من الكمية الكلية للأنزيم) كما وجد أن طريق اضافتها الى اللبن قبل عملية التنفيح قد أدى الى اختصار فترة التسوية الى حوالى ٥٠٪ .

٢-٤-٣- أنزيمات الليبيز

يلعب تحلل الدهن دورا رئيسيا فى توليد الطعم فى عدد من أنواع الجبن مثل الرومانو Romano ، والجبن المعرقة بالفطر Blue cheese ، وجبن الفتا Feta والدمياطى ولكن أهميتها غير واضحة فى بعض أنواع من الجبن مثل التشدر أو الجودا .

الشق الطيار من جبن التشدر المحتوى على الأحماض الدهنية يساهم بدرجة كبيرة فى نكهة الجبن وليس فى المذاق taste والشق غير الذائب فى الماء ليس له طعم أو نكهة بينما الشق غير الطيار والذائب يساهم فى شدة الطعم بدرجة كبيرة . تحلل الدهن يساهم بدرجة ملحوظة فى طعم الجبن السويسريه ويرجع ذلك أساسا الى الأنزيمات المحللة للدهن lipolytic enzymes الناتجه من مزارع البادئات المستخدمة . نشاط الأستريز المعوى pre-gastric esterase (PGE) فى عجينة المنفحة المستخدمة فى صناعة بعض أنواع من الجبن الإيطالية يكون مسئولا بصفة رئيسية عن أنفراد مستويات مرتفعة من الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة التى تنتج صفات الطعم الحريف المشابه للفلفل "piccante", peppery والمميزة لهذه الجبن .

وقد اشار البعض الى أن الأستريز من *Mucor miehei* يمكن أن ينتج الطعم فى الجبن الرومانو مماثل بدرجة كبيرة للناتج بواسطة PGE . طعم هذه الجبن الإيطالية يمكن تحسينها بإضافة مستحضر تجارى لأنزيم الليبيز الى عجينة المنفحة .

يرجع صفات الطعم الحريف فى الجبن المعرقة بالفطر الى الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة ومركبات الميثل كيتون methyl ketones . معظم تحليل الدهن فى الجبن المعرقة بالفطر تحدث بواسطة ليبيز من *P.roqueforti* مع مساهمة أقل لأنزيم ليبيز اللبن الطبيعى. يمكن الإسراع من تسوية الجبن المعرقة بالفطر بإضافة الليبيز من فطريات *Aspergillus* sp. ومع ذلك فإن مستحضر الليبيز المحتوى على بروتينيز يؤدى الى زيادة مستويات الأحماض الأمينية الحرة . تثبيط تحلل البروتين يكون مرتبطا بإضافة أنزيم ليبيز حيوانى ولكن لا يحدث تثبيط لتحليل البروتين مع أستخدام ليبيز فطرى ، وفى هذه الحالة فإن اسراع تسوية الجبن المعرقة بالفطر تعزى الى تحلل كل من الدهن والبروتين . يمكن الإسراع من ظهور الطعم فى الجبن الراس والدمياطى بإضافة مستحضرات تجارية تحتوى على أنزيمات ليبيز حيوانى . وقد تم تحسين طعم الجبن الراس بإضافة Capalase K (أنزيم محلل للدهن ناتج من الأنسجة المعوية فى الماعز) حيث تكتسب الجبن المعاملة بالأنزيم الطعم الكامل بعد ٤٥-٦٠ يوم مقارنة بـ ٩٠ يوم لجبن الكنترول . فى حالة الجبن الدمياطى المضاف اليها أنزيمات ليبيز (من الماعز والغنم) فإن شدة الطعم فى الجبن عند ٤ أسابيع كان أكثر وضوحا عن الطعم فى الجبن غير المعاملة عند ٨ اسابيع ومع ذلك فإنه عند مستويات مرتفعة من الأنزيم تظهر الزناخة rancidity بعد ٨ أسابيع . وقد لوحظ تحسين طعم جبن التشدر والبرفلونو Provolone عند إضافة عجينة المنفحة أو الليبيز المعوى gastric lipase مع مستخلص المنفحة ومع ذلك فإن زيادة تحلل البروتين قد يدل على تلوث الليبيز بدرجة كبيرة بأنزيمات البروتينيز .

كما تم محاولة اضافة الليبيز الى جبن التشدر الأمريكية والأنجليزية للأسراع من ظهور الطعم. كما تم تقييم مستحضرات مختلفة من ليبيز حيوانى (غنم أو بقر) أو ميكروبى (*Mucor* sp.) مع أو بدون استخدام النيوتريز Neutrase (بروتينيز) عند المستوى الذى يسرع من تسوية جبن التشدر . لم يظهر لأى من هذه المستحضرات سواء منفردة أو بالأشتراك مع النيوتريز أى تأثير لتحسين الطعم بعد شهرين . تركيزات الأحماض الدهنية الحرة تزيد بدرجة ملحوظة بالمقارنة بجبن الكنترول ولكن ليس بدرجة تتناسب مع تركيز الأنزيم المضاف وقد كانت الزناخة rancidity واضحة بعد شهرين حتى عند مستويات منخفضة حيث يتكون طعم صابونى soapy غير مرغوب طبقا للأنزيم المضاف.

وفى دراسة للأسراع من تسوية الجبن الرأس بأستخدام أنزيمات ليبيز ميكروبية وجد أن إضافة مخلوط من أنزيمات ليبيز من *Aspergillus niger* ، *Saccharomyces*

cerevisiae ، *B. subtilis* بنسبة ١:١:١ بمعدل ٦ جرام لكل ١٠ كجم خثرة أدى الى تخفيض فترة التسوية الى ٥٠٪ مع الحصول على جبن تحتوى على الطعم والنكهة المرغوبة.

وليبيز مستحضر Flavour Age - FR (من فطر *A.oryzae*) يتميز بتخصيصه عالية للأحماض الدهنية (C_6-C_{10}) ويعتبر مهم جدا لأنتاج الطعم المرغوب (يختلف عن بعض أنزيمات الليبيز الأخرى حيث لا ينتج حمض البيوتريك الذى يسبب زناخة أو dodecanonic acid الذى يسبب طعم صابونى). اضافة هذا الأنزيم الى خثرة الجبن عند التمليح يؤدى الى تحسين الطعم بدرجة كبيرة بالمقارنة بجبن الكنترول . عند اضافة هذا الأنزيم الى لبن الجبن فإن أكثر من ٩٠٪ منها يحتجز فى الجبن . عند المقارنة بـ PGE من البقر والذى يسبب أطعمة غير مرغوبة فإن Flavour Age-FR ينتج أحماض دهنية حرة مماثلة لجبن الكنترول ولكن بتركيزات أعلا .

اضافة مزارع *L.lactis* subsp. *lactis* أو *Lb.casei* مع PGE ماعز أو غنم أو الأثنين معا الى اللبن المبستر فى صناعة الجبن الفتا Feta يؤدى الى أنتاج جبن بصفات النكهة والقوام والتركيب المميزة لهذا النوع . وقد تم الحصول على أفضل طعم فى هذه الجبن عند إضافة PGE ماعز أو غنم فقط ، حدوث زناخة زائدة فى بعض أنواع الجبن مرتبطة بأنتاج أحماض دهنية (C_{12}) أو أعلا .

قام بعض الباحثين بإستخدام الليبيز الحيوانى أو الميكروبى للأسراع من تسوية جبن الفتا Feta مصنوعة من لبن معامل بالترشيح الفائق UF ووجد أنه يمكن الحصول على أفضل النتائج مع الأنزيم الميكروبى وقد وجد أن إضافة أنواع مختلفة من ليبيز حيوانى يحسن من صفات الطعم للجبن الأبيض Queso blanco فى أمريكا الجنوبية والوسطى .

٢-٤-٤- أنزيم اللاكتيز (lactase) β- galactosidase

يحلل أنزيم اللاكتيز (β- galactosidase) اللاكتوز الى جلوكوز وجلاكتوز ، ومعاملة اللبن بهذا الأنزيم قبل صناعة اليوجهورت أو اللبن الخض المتخمر أو لبن جبن Cottage يقلل من فترة الصناعة بحوالى ٢٠٪ وقد كان اليوجهورت أكثر حلاوة sweeter وأقل حموضة ويعتبر بصفة عامة أكثر قبولا للأستهلاك عن الكنترول . كما لوحظ زيادة فى محصول جبن Cottage نتيجة المعاملة الأولية بأنزيم اللاكتيز كما يحدث تنشيط للـ Lactococci فى اللبن المعامل بأنزيم اللاكتيز . والتأثير الاساسى لأنزيم β-galactosidase يتركيز فى تقصير فترة الطور اللاجى lag phase لنمو

Lactococci ، والمعاملة بالأنزيم لا يؤدى الى زيادة فى أعداد الخلايا .

إضافة اللاكتيز الى لبن جبن التشدر قد تم دراسته لتقصير فترة الصناعة وتحسين الطعم وأسراع عملية التسوية بحوالى ٥٠٪. وقد زاد تحلل البروتين فى جبن المعاملات بدرجة كبيرة عما فى جبن الكنترول . الأنزيم المستخدم من *Kluyveromyces lactis* ويعرف بـ Maxilact ويحتوى على بروتينيز مسئول عن زيادة مستويات الببتيدات والأحماض الأمينية الحرة ويساعد على تحسين طعم الجبن الناتج دون حدوث زيادة فى أعداد خلايا البادىء يمكن أن تعزى الى تأثير هذا الأنزيم. معاملة اللبن بـ Maxilact لا ينشط أنتاج الحموضة بواسطة *Lb.helveticus* ، *Lb.lactis* أو *Lb.bulgaricus* ولكنه ينشط *S.thermophilus* ، وقد يعزى ذلك الى أن نواتج تحلل البروتين بواسطة البروتينيز الملوث لمستحضر β-galactosidase أكثر منه الى تحلل اللاكتوز . وقد وجد بعض الباحثين أن Maxilact يحتوى على نشاط endopeptidase acid ، serine endopeptidase، serine exopeptidase . كما أن هذا المستحضر له القدرة على تحلل الكازين فى نطاق pH من ٥,٠ - ٨,٠ ، معدل تحلل كل شق من الكازين كان على الترتيب التالى: β-casein > α_s - > k^- ولم يلاحظ أى مرارة فى أى من هذه الحالات . وقد رأى بعض الباحثين أن زيادة معدل تحلل البروتين والتسوية فى الجبن الناتجة من لبن معامل باللاكتيز لا يعزى بالكامل الى البروتينيز الملوث .ولكن وجد بعض الباحثين أن Maxilact يحتوى على نشاط ضعيف لتحلل البروتين وأن زيادة تحلل البروتين فى جبن التشدر المضاف اليه المستحضر قد يرجع الى تنشيط البادئ والفلورا الثانوية مع أعداد من Lactococci ، Lactobacilli وصلت الى ٦-١٠ أضعاف مثيلتها فى جبن الكنترول بعد يوم واحد . لذلك فقد رأى البعض أن زيادة تحلل البروتين يعزى بصفة رئيسية الى المستوى المرتفع من أنزيمات ببتديز البادئ الناتج من مثل هذه الأعداد المرتفعة من البكتيريا فى الجبن المعاملة باللاكتيز . كما وجد أن وجود أعداد مرتفعة من خلايا البادئ لا يؤدى بالضرورة الى زيادة ظهور الطعم وبالتالى فإن إسراع تسوية الجبن المعامل بالـ Maxilact يرجع الى أنزيمات البروتينيز الملوثة .

٢-٥ معلقات الجبن

يمكن الاسراع من ظهور طعم الجبن فى معلقات الخثرة الطازجة cheese slurries بإضافة عوامل مساعدة أو أنزيمات مختلفة مع التسوية على درجة حرارة مرتفعة لفترات قصيرة . وقد لوحظ ظهور طعم جبن تشدر معتدل فى خثرة جبن تشدر بدون كبس

معلقة فى ٥,٢ ٪ ملح بعد التخزين لمدة ٩ أيام عند ٣٠ م . أضافة جلوتاثيون مختزل reduced glutathione يزيد من شدة الطعم ويرجع ذلك الى تنشيط تحلل البروتين ، تحلل الدهن ونمو البكتيريا . كما لوحظ تركيزات مرتفعة من الاحماض الدهنية الحرة (C_4 أو أكثر) . وقد أستنتج أن الجلوتاثيون المختزل قد يساهم بطريقة مباشرة فى الطعم أو يسبب تعريض مجاميع السلفدريل sulphydryl للإنزيمات لزيادة النشاط الانزيمى فى التسوية . أضافة ليبيز حيوانى وجلوتاثيون يؤدى الى انتاج الطعم المميز للجبن الرومانو فى مدة ٥-١٠ أيام ويتوقف ذلك على مستوى الليبيز والجلوتاثيون المختزل المضاف . أطالة فترة التخزين بدون أضافة الليبيز ولكن مع وجود جلوتاثيون مختزل يؤدى الى ظهور الطعم المميز فى جبن البريك Brick .

وقد أمكن الحصول على أفضل النتائج بالنسبة لتأثير مزارع Lactococci ، وحموضة الخثرة عند الطحن على ظهور الطعم وذلك بإستخدام بادئ تجارى مختلط السلالة ، حموضة خثرة ٠,٥٥ ٪ عند عملية الطحن مع إضافة جلوتاثيون مختزل. يتكون الطعم بدرجة مثلى فى المعلق المحتوى على ١٠٠ جزء فى المليون جلوتاثيون مختزل ، ٣٪ كلوريد صوديوم ، سترات صوديوم ، ريبوفلافين أو كوبالت Mn^{2+} والتحضين عند ٣٠-٣٥ °م مع التقليب اليومى. وقد أشارت هذة الدراسة أن ظهور الطعم يكون مرتبط بتكوين مجاميع سلفدريل نشطة وأحماض دهنية حرة .

وقد تم الحصول على طعم جبن تشدر مقبول فى خثرة ناتجة من التحميض المباشر (مع أضافة المنفحة) وأضافة جلوتاثيون مختزل ، كوبالت ، ريبوفلافين ، ثنائى الاستيل ، بادئ بكتيريا حمض اللاكتيك مع ضبط pH بصفة منتظمة الى ٥,٣ للحد من نمو البكتيريا غير المرغوبة. بالنسبة للمعلقات التى تعرضت لدرجة حرارة ٦٢ أو ٧٠°م فإن أضافة المنفحة ضرورية لاستعادة القدرة على ظهور الطعم المرغوب والذى وجد أنة يرتبط بتحلل α_{s1} -casein .

إنتاج طعم جبن سويسرى ناضج باستخدام طريقة المعلق تم الحصول عليه فى ٥-٦ أيام عند درجة ٣٠°م ، أضافة جلوناثيون المختزل يحسن من ظهور الطعم . يستخدم أيضا معلق الخثرة فى صناعة الجبن المطبوخة . المعلقات المحضرة باستخدام مدخلات مختلفة: المنفحة مع ضبط pH الى ٦,١ (يعطى طعم الجبن المعرقة بالفطر) ، جلوثاثيون مختزل (يعطى طعم كبريتى sulphury) ، أنزيمات ليبيز أو التخزين فى وجود فراغ فوق سطح المعلق من الاكسجين يعادل ضعفى حجم المعلق. وعندما تضاف هذه المعلقات بمفردها أو بالاشتراك مع مخلوط جبن مطبوخ عند مستويات يجب ألا تزيد عن ٢٠٪ من

المخلوط الاجمالى فإنه يمكن انتاج درجات مختلفة من الطعم فى المعلقات ويتوقف ذلك على المعاملة . الناتج النهائى يختلف بدرجة كبيرة فى الطعم طبقا لنوع المعلق و الاضافات ومستوياتها المستخدمة فى المعلق .

وقد تمت دراسة إسراع تسوية جبن التشدر الطبيعى بإدخال معلقات الجبن سواء الى لبن الجبن أو الخثرة قبل عملية الشدرنة أو الخثرة المملحة قبل عملية الكبس ، وقد وجد أن اضافة ٠,٣٪ سوربات البوتاسيوم الى المعلق يمنع نمو الخمائر وظهور أطعمة غير مرغوبة . ويفضل الاضافة الى الخثرة قبل التعبئة فى القوالب حيث أنها تؤدى الى فقد أقل فى الشرش . وقد وجد أن طعم وتسوية جبن المعاملات كان أفضل من جبن الكنترول بالرغم من أنها أكثر إرتفاعا فى محتوى الرطوبة عن جبن الكنترول ، مما يدل على أن التأثير على التسوية ترجع أساسا الى المعلق المضاف أكثر منة الى ارتفاع محتوى الرطوبة . لا يحدث زيادة فى تحلل البروتين مقارنة بجبن الكنترول ومع ذلك فإن أضافة المعلقات قد تؤدى الى زيادة ملحوظة فى أعداد Lactobacilli التى قد تكون مسئولة عن زيادة تكوين الطعم .

سرعة ظهور طعم جبن الراس الناضجة (٧ أيام عند ٣٠°م) يحدث فى معلقات الخثرة المعاملة سواء بمخلوط بروتيتيز /ليبيز أو محلول من العناصر النادرة أو سترات الصوديوم وكان الطعم الناتج مماثلا لطعم الجبن التقليدية والمسواه لمدة شهرين . وبالنسبة لتأثير المعاملات على ظهور الطعم فإن تحليل البروتين أو تحليل الدهن ينخفض بالترتيب التالى : مخلوط بروتينيز /ليبيز < العناصر النادرة < سترات الصوديوم. مخلوط البروتينيز / الليبيز يحسن تحلل كل من البروتين و الدهن كما يؤدى أيضا الى زيادة أعداد البكتيريا المحللة للبروتين أو المحللة للدهن. أستخدام معلق جبن الراس لإسراع تسوية جبن الراس سواء بإضافتة الى لبن الجبن أو الخثرة قبل عملية التعبئة فى القوالب أدى الى اختصار فترة التسوية بحوالى ٥٠٪ . أضافة المعلق الى الخثرة قبل عملية تعبئة الخثرة فى القوالب قد أدى الى الحصول على أفضل النتائج مع زيادة فى تحلل البروتين والدهن وزيادة أعداد البكتيريا .

فى الجبن الجافة السويدية فإن إضافة معلق جبن ناضجة الى لبن الجبن قبل التصنيع أدى الى زيادة أعداد Lactobacilli فى الجبن وانتاج طعم أقوى من الجبن العادى بعد ٣ شهور تسوية .

تأثير إضافة معلق جبن معقم ملقح بـ *P.roqueforti* ومسوى على درجة ٢٥ °م لمدة ١٥ يوم عند مستوى ١ أو ٢٪ الى خثرة جبن المعرقة بالفطر Blue cheeseمع مقارنة

ذلك بتأثير البروتينيز أو الليبيز من *P.roqueforti* على ظهور طعم الجبن المعرقة بالفطر وجد أن إضافة المعلق بمعدل ٢٪ ينشط بدرجة كبيرة تحلل كل من البروتين والدهن وظهور الطعم بعد ٤٥ يوم مع مستويات من تحلل البروتين أو الدهن مماثلة للجبن بعد ٦٠ يوم . وقد كانت النتائج المتحصل عليها بإضافة ٢٪ معلق مماثلة لما تم الحصول علية من إضافة انزيمات *P.roqueforti* الى خثرة الجبن المعرقة بالفطر .

وهناك طرق مختلفة للإسراع من انتاج طعم جبن المعرقة بالفطر من بينها أضافة الليبيز الى لبن الجبن أو بتغليف حبيبات أو قطع الخثرة بأنزيم الليبيز أو بقشدة معاملة أنزيميا. أستخدام قطع الخثرة المعاملة فى هذه الطريقة تساعد على إكتمال التسوية فى خلال ٤-٦ أيام . وقد لوحظ زيادة مستويات الاحماض الدهنية الحرة ومركبات الميثيل كيتون فى جميع جبن المعاملات .

وقد أمكن تحضير مركز طعم جبن كممبير فى صورة خثرة بإضافة ليبيز عجول صغيرة الى لبن مجنس حيث أمكن الحصول على ناتج ذات طعم قوى فى ١٢ يوم. و هذه المركزات يمكن إستخدامها فى أغذية أخرى مثل معجون أو عجينة الجبن المطبوخة كبديل للجبن الطبيعية .

ميكانيكية تكوين الطعم فى المعلقات غير واضحة وأن العملية كاملة من الصعب التحكم فيها، نمو الخمائر يسبب أطعمة غير مرغوبة ولكن هذة التغيرات يمكن السيطرة عليها بإضافة سوربات البوتاسيوم الى المعلق. يمكن استخدام المعلق فى تقييم صالحية أنزيمات البروتينيز ، الليبيز أو البتديز لاستخدامها كعوامل تسوية للإسراع من تكوين الطعم مما يساعد على توفير الوقت والتكاليف. بهذه الطريقة يمكن الحصول على النتائج بطريقة أسرع دون الحاجة الى تصنيع جبن على نطاق واسع كما يمكن تقييم المزارع البكتيرية بإستخدام معلقات الجبن من حيث قدرتها على انتاج مركبات نيتروجينية منخفضة الوزن الجزيئى بدون ظهور أطعمة غير مرغوبة .

تعتبر الجبن المعدلة أنزيميا enzyme - modified cheese (EMC) طريقة مختلفة عن نظام المعلقات حيث تتضمن أضافة انزيم الى الجبن بعد الصناعة او بعد التسوية. EMC الناتجة قد تكون لها تركيب بنائى مماثل أو مختلف قليلا عن النوع المراد انتاجة أو قد ينتج فى صورة عجينة paste . وقد أمكن انتاج مفرود جبن إيطالية التى تتضمن EMC برمسان أو رومانو عند مستويات ٠,٦٪.

الخطوات الرئيسية فى انتاج EMC تتضمن تحضير معلق جبن مع إضافة أنزيم معين ثم التجنيس و التحضين للوصول الى مستوى الطعم المرغوب ثم اتلاف الانزيم

عادة بالتسخين . هذا الناتج يمكن أن يستخدم بمفرده أو يضاف الى أغذية أخرى ليعطى طعم جبنى cheesy قوى واضح بتكاليف منخفضة . وعموما فإن معدل أضافة EMC الى الاغذية يتراوح من ٠,١ -٠,٥ ٪. وتبلغ شدة الطعم فى EMC حوالى ٥-٢٥ ضعف الطعم فى نوع الجبن المعنى.

طريقة Novo لإنتاج EMC يتضمن أستخدام جبن متوسطة التسوية التى يتم استحلابها وتجنيسها وبسترتها ثم إضافة Palatase (أنزيم ليبيز من *M.miehei*) مع أو بدون بروتينيز ثم يتم تسوية المخلوط عند درجة حرارة مرتفعة لمدة ١-٤ يوم. يسخن المخلوط لانتاج عجينة والتى تكون مناسبة لإستخدامها فى صناعة المرقة soups ، معجون أو سائل غمس dips ، مزيج متبل dressing أو أغذية خفيفة snack foods . يستخدم طريقة EMC لانتاج أنواع مختلفة من الجبن ومركزات أطعمة تشمل الجبن السويسرية ، المعرقة بالفطر Blue cheese ، التشدر ، البروفلونو والرومانو تكون مناسبة لاستخدامها عند مستويات منخفضة فى كثير من المنتجات الغذائية.